農業氣象、空氣污染與酸雨對農業生產影響及因應措施
研討會論文專輯　155-167，1996

模擬酸雨對落花生生理反應之影響

姚銘輝　漆匡時　蔡金川
臺灣省農業試驗所農工系

內　容

摘要……156
英文摘要……156
前言……156
材料與方法……157
結果與討論……157
引用文獻……166

模擬酸雨對落花生生理反應之影響

姚銘輝　漆匡時　蔡金川

臺灣省農業試驗所農工系

摘　要

本試驗目的爲探討不同酸度及處理次數對落花生葉片生理反應(表皮導度、葉綠素、表層臘質及二氧化碳交換速率)的影響。結果顯示，處理酸度pH2.5將使表皮細胞葉綠素含量及臘質明顯減少，並且下降幅度與處理次數有密切關係。相同酸度亦將使二氧化碳交換速率降低，其原因可能是葉綠素含量減少及氣孔關閉所致。然而，處理酸度在pH3.0 以上對各種生理介量都無影響

關鍵詞：模擬酸雨、表皮導度、腊質、二氧化碳交換速率

Effect of Simulated Acid Rain on Physiological Responses of Peanut

Ming-Hwi Yao, Kung-Shy Chi and Jin-Chuan Tsai (Department of Agricultural Engineering, Taiwan Agricultural Rearch Institue, Wufeng, Taichung, Taiwan, R.O.C.)

Abstract : The objectives of the present study were to monitor peanut leaf physiological (i.e. epidermis conductance, chlorophyll levels, cuticle wax levels and CO_2 exchange rate) and injury response to determine if pH values and treatment frequency in combination, could cause alteration in these parameters. Results indicated that little or no adverse effects were produced on physiological response by simulated acid rain of pH above 3.0 during exposure. However, simulated acid rain treatments at pH 2.5 significantly decrease of chlorophyll and wax on epidermis cell. These alterations closely paralleled increase in treatment frequency. However, the decrease of CO_2 exchnage rate was consided to be caused by the reduction of chlorophyll content and the close of stoma to when exposed to at acid rain pH 2.5.

Key words：Simulated acid rain, Epidermis conductance, Wax, CO_2 exchange rate (CER)

前　言

酸雨或酸霧對植物表層的傷害，主要是在葉片上產生白色或褐色的壞死斑點及黃化現象，花朵則產生褪色斑點。葉片受害程度與pH值的高低有關，一般而言，森林植物pH 3.5以下受害，農作物則pH 3.0以下受害(Olszyk et al., 1989)。酸雨使葉片及花卉斑點產生受害程度的關係與雨水中氫

離子濃度及接觸時間相依存，氫離子濃度增加（pH值下降）則被害面積增加（Evans, 1982）。另外，雨滴粒子在表片上呈粒狀或薄膜狀的差異亦將影響葉片受害程度。雨滴滯留在葉脈受害較輕，在葉緣及葉尖則受害重（Evans, 1982）。溫度、濕度、風速、葉片浸濡程度、葉型及接觸時間皆直接或間接影響受害程度。

酸雨對農作物的生理傷害是多方面的，例如降低葉綠素含量(Ferenbaugh, 1976)，葉片黃化及伸長受阻(Irving et al., 1983)，降低淨光合速率(Yunfeng et al.,1996)，花粉發芽率降低(Forsline et al., 1983)、表層腊質減少(Percy and Baker, 1987)及表皮導度產生變異(Knittel and pell, 1991)。

落花生爲世界重要雜糧作物之一。本省早年落花生栽培面積曾高達每年十萬公頃，是當時主要的食用油源之一。近年來，落花生製油用途雖然減少，但加工及食用卻相對的大幅提高，因此，每年栽培面積仍舊維持在四萬公頃左右，而成爲本省最穩定的雜糧作物。落花生在光合作用機制上的區分，屬C_3型植物，其淨光合作用速率，幾乎超過所有其他C_3型植物，且在光量高至1400 $\mu E\ m^{-2}\ s^{-1}$時，仍未到達光飽合點，具有極高之乾物質生產能力。此外，在空氣污染研究中，落花生爲一種極佳指標作物(尤其是氯氣污染)，對酸雨反應爲亦屬於敏感性作物。本試驗主要是以落花生爲材料，探討不同酸度之模擬酸雨對落花生葉片生理反應的影響，並以不同噴施次數探討酸雨量與植物受害程度之間的關係，希望藉由此探討能更深入了解酸雨害。

材料與方法

試驗採用臺南11號品種爲材料，以盆缽方式種植於塑膠布溫室內，以避免天然雨水及減少粉塵沉降，土壤係取田間壤土與有機肥料。以1：1比例種植，生育期間施用一次複合肥料作爲追肥，水份則以水管直接灌入盆缽土壤內，避免淋澆於葉片上。

酸雨處理分pH3.5，3.0及2.5等三種，配製以硝酸：硫酸＝2.5：1(體積比)，用噴霧器噴灑，於植株上方30公分處噴灑使雨粒自由落下，雨滴粒徑以水試紙測定，約爲0.5- 1公厘。每次噴施雨量爲1公厘，於早上8時噴施，每次噴施約可維持葉片完全濕潤20分鐘。葉片生理反應測定則以始花期成熟葉片爲材料。生理反應測定項目爲葉片臘質含量、氣孔導度、葉綠素含量及二氧化碳交換速率等。各性狀測定方法如下所述：

1. 臘質含量測定，係依據Mayeux等人(1981)方法修飾而成，取直徑2公分之葉圓片10片，用蒸餾水沖洗二次後加入30毫升chloroform，在室溫下浸15分鐘，再將溶液倒入預先稱重之燒杯中，放入烘箱內以50℃烘乾後，經稱重並減去燒杯重即爲臘質含量。
2. 葉片上表皮及下表皮氣孔導度係以LI-1600 steady state porometer (Licor Inc. Nebraska, USA)測定，每盆選生長一致的葉片測定，將測得數據取平均值。
3. 葉綠素測定是取直徑1公分之葉圓片3片，放入試管中，加5毫升95％(v/v)酒精在黑暗中萃取48小時，用光電比色計在665, 649, 470mm波長下測吸光度(Arnon and Johnson, 1942)。
4. 二氧化碳交換速率(CO_2 exchange rate; CER)是取完全展開葉，用近紅外線二氧化碳分析儀(6252 CO_2 analyzer(IRGA)，Licor Inc. Nebraska, USA)，氣體流速控制在6升/分鐘，每一測定值爲15分鐘。

結果與討論

酸雨對植物體最直接的作用部位在葉片表層之表皮。表皮是由果膠層（pectin）、角質層（cutin）、臘層（wax）及表層臘質（epicuticular wax)所組成，可保護植物免受環境中化學及物理的傷害，及防止植物體內水份的蒸散。表層的最外側爲表層臘質，上有皮狀、緞帶狀、管狀及桿狀等各式不同的結晶臘質。本試驗中首先分析落

花生葉片在未處理酸雨時，上下表皮腊質分佈情形，由圖1可知上表皮含量爲14 g/m^2,下表皮含量則僅有0.5g/m^2。由於各種沈降物直接衝擊上表皮，所以疏水性的腊質，是葉表對抗酸雨及大氣污染的第一道防線。葉片受酸雨潤濕，表層臘質進行化學分解，首先是臘質的長鏈脂肪酸產生游離，使組成結構產生改變，進而臘質分解而破裂（Turunen and Huttunen, 1990）。本試驗中酸雨處理落花生葉片將使表層腊質分解而減少，圖2爲pH 2.5, 3.0及3.5 經1, 3及9次處理後腊質變化情形，酸度越高則含量下降越多，並且隨處理次數下降，不過這種下降情形僅在pH3.0以下才發生，爲更詳細了解pH3.0至2.5間變化情形。圖3爲pH 2.5, 2.7, 2.9及3.0間和處理次數1, 3, 5, 7, 9等不同組合臘質變化情形，處理間差異並不大，主要是噴施次數影響較大，尤其7及9次較其他次數來得明顯。由以上結果可知pH3.0 以下腊質才有溶解現象，而在3.0至2.5之間的酸度差異不大，反而是處理次數多寡較能顯示出"劑量效應"。

落花生葉片氣孔的分佈，依據Hall等人(1993)所記載是上下葉均勻分佈，其數目爲15～20個/mm^2，但由氣孔導度所測結果則顯示下表皮的導度較上表皮爲高(圖4)。至於葉片接觸到酸液時的反應如何，在試驗中將葉片噴施不同酸度的酸雨，分別於處理後 10, 20, 30及60分鐘時測定下表皮導度變化，結果如圖5所示，pH2.5處理後10分鐘導度有下降趨勢，20分鐘後則回復至對照組相同，顯然酸對早期導度有刺激作用，使氣孔收縮而略爲關閉，經一段間後再重行打開。處理三次時，並無突然收縮現象，但平均值均較對照組爲低，至第九次時，則pH 2.5處理顯然使下表皮氣孔收縮。至於因上表皮的腊質分佈使得通氣度下降，或是氣孔開度較少使減少水份的散失。上表皮經pH 2.5酸處理後(圖6)，處理次數爲1或3次時並無差異，至第9次時則導度較對

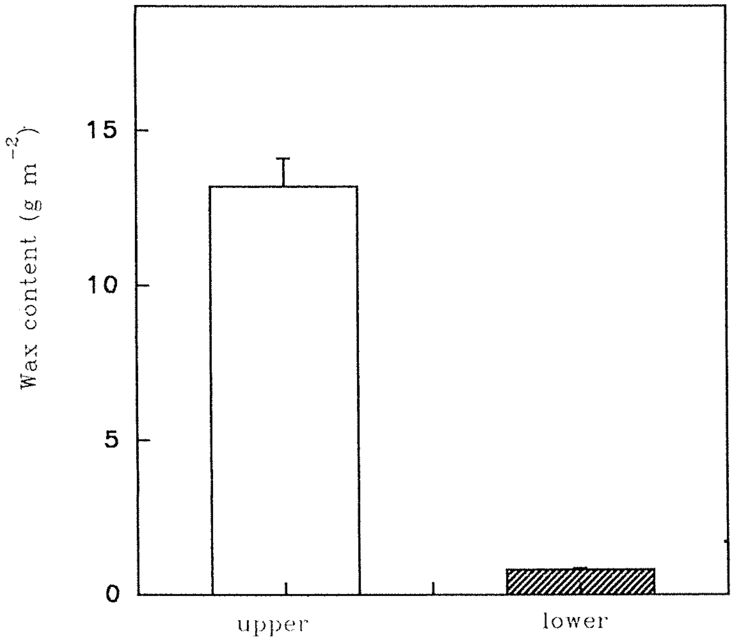

Fig. 1. Comparsion of leaf upper and lower epidermis wax content in peanut. Bar indicates standard error.

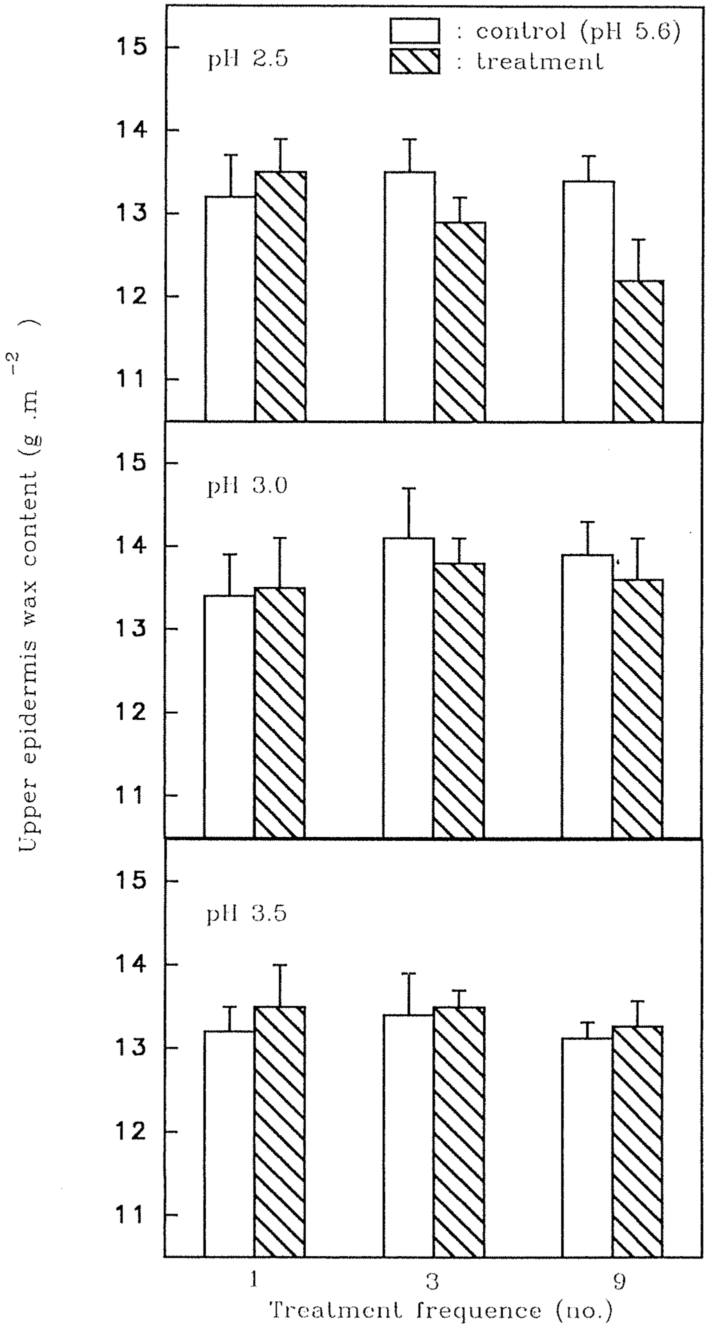

Fig. 2. Changes of upper epidermis wax content of peanut leaf under simulated scid rain treatment. Bar indicates standard error.

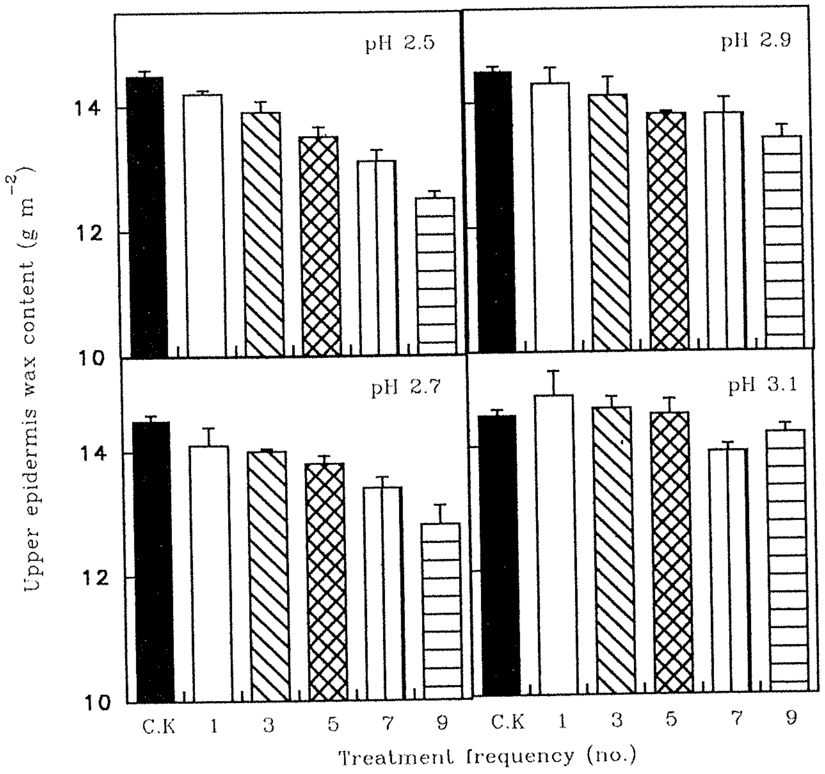

Fig 3. Changes of upper epidermis wax content of peanut leaf under simulated acid rain treatment. Bars indicates standard error.

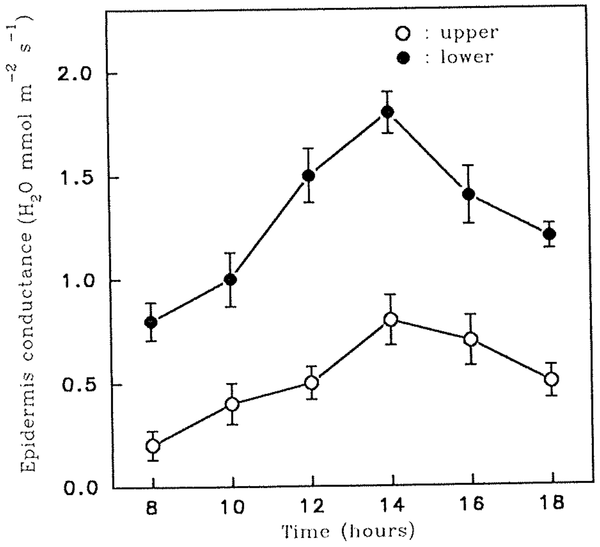

Fig 4. Comparsions of leaf upper and lower epidermis conductance in peanut. Bar indicates standard error.

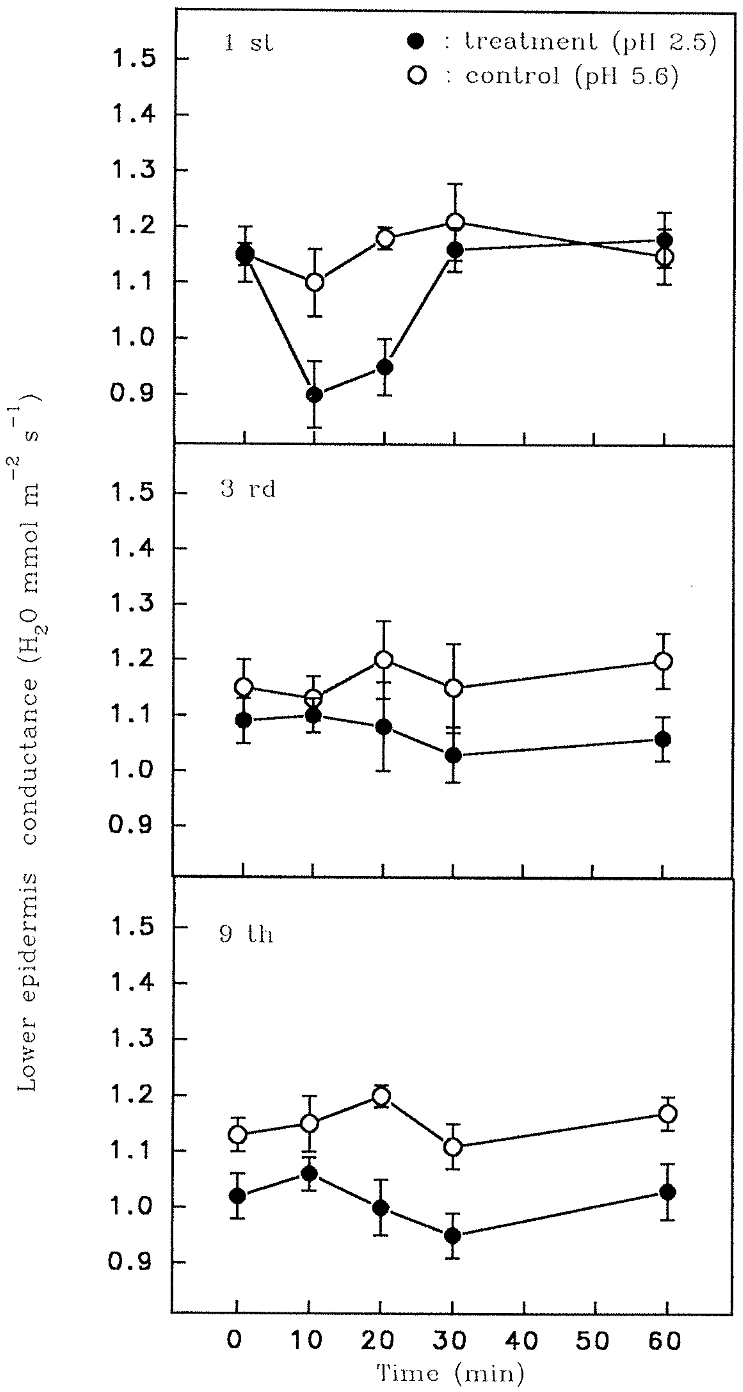

Fig 5. Effect of simulated acid rain (pH 2.5) on the diurnal changes of lower epidermis conductances of the peanut leaf. Bars indicates the standard error.

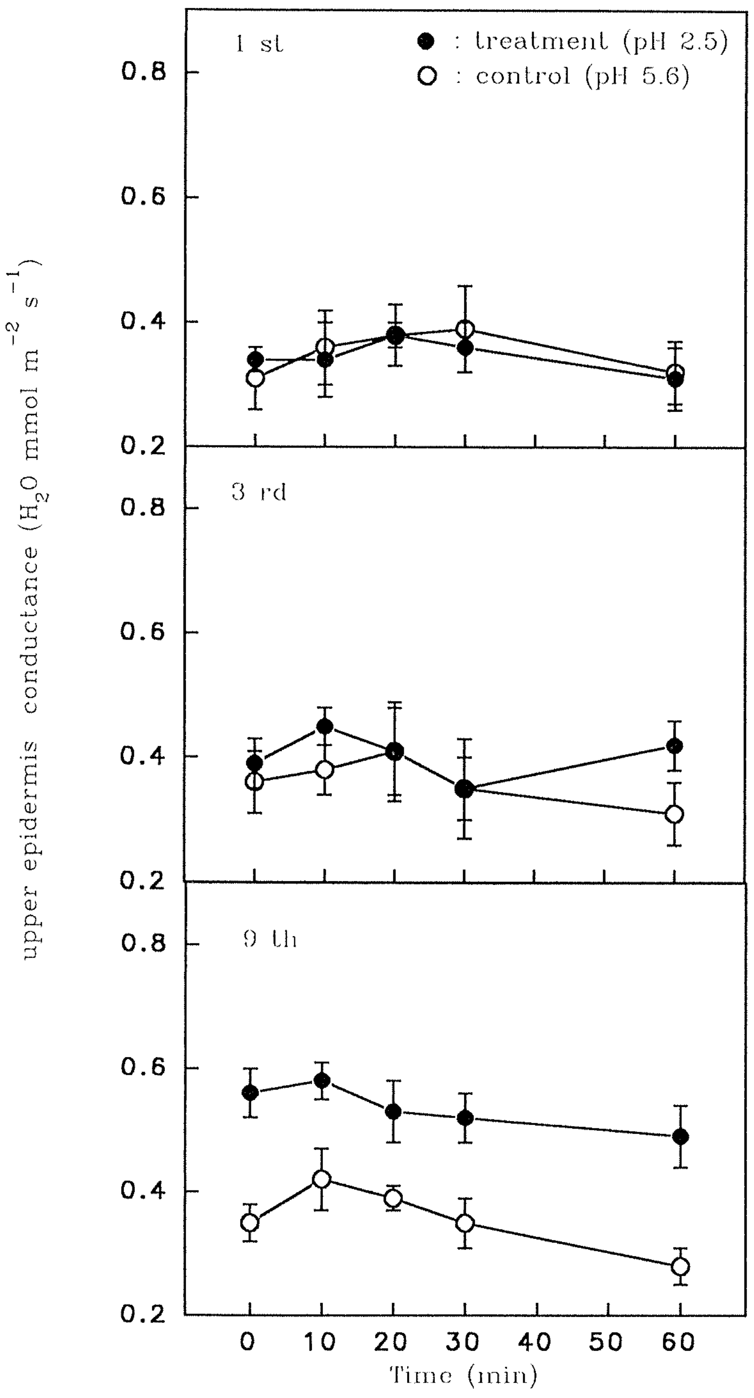

Fig 6. Effect of simulated acid rain (pH 2.5) on the diurnal changes of upper epidermis conductances of the peanut leaf. Bars indicates the standard error.

照組來的高。由上述下表皮試驗結果可知，pH 2.5酸度對氣孔有收縮作用，並且上、下表皮氣孔數目相同的情形下，上表皮導度增高的合理解釋應是臘質下降使表層通氣性增高所致，雖然，葉片通氣導度絕大部份來自於氣孔的開閉，但上表皮氣孔開度爲減少水份散失，開度不大，經酸處理後差異度不易顯現出來，反而是腊質減少才是導度增加的主要原因。

污染源引起植物葉片氣孔開閉的反應是相當重要的過程，首先，將增進或減緩光合作用二氧化碳的吸收及蒸散作用之水分喪失，再次，開度影響污染物進入葉肉組織代謝位置的數量及速率，氣孔的反應將影響污染物對植物的傷害程度。氣孔經酸雨處理後，將會有不同的反應，Eamus (1993)利用不含硫酸根之pH 2.5 酸霧處理紅縱樹，發現光度增强時可使氣孔打開，若含有硫酸根則光度超過1500 μ moles m^{-2} s^{-1}氣孔仍無反應。Trumble和Walker (1991)處理pH 2.5 酸霧在菜豆葉上，發現氣孔阻抗值較pH 6.3高37 %，而pH 3.0則增加至少27%。然而pH 3.0處理玉米葉片表層導度不受影響，並且氣孔導度在不同年度處理時有不同結果(Knittel and Pell, 1991)。因此，氣孔導度的差異表現受物種間差異，噴施濃度、處理時間及處理時環境狀態所影響。此外，污染源所引起其他生理破壞亦將使對氣孔開度受影響，氣孔保衛細胞周圍的表皮細胞受破壞後，將影響細胞間膨壓的變化，進而影響氣孔開閉。另氣孔周圍pH值的下降將影響有效離層酸(ABA)的含量，誘導氣孔關閉或保衛細胞對ABA的敏感度。不過，污染源對氣孔產生反應時，ABA必須從葉肉細胞釋放出來，在强酸下，細胞破壞，逆境或葉片水勢的減少，都可能刺激ABA由葉肉細胞內釋放出來(Unsworth and Ormrod, 1982)。

植物組織因酸雨的滲透，葉綠素含量有減少現象(Johnston et al., 1982)，由圖7得知，落花生在酸度pH2.5處理次數9次時，葉綠素含量約爲對照組的63%，此時葉片呈現黃化現象。事實上，葉綠素含量在pH 3.0以上的處理酸度是不受影響(Hindawi et al., 1980; Smith et al., 1990)。酸雨中硫酸根離子將影響膜脂質而使細胞膜通透性產生改變，sulphite 將破壞雙硫鍵而使蛋白質和膜產生破壞，並且進入葉綠體的 lamellae影響葉綠體膜，而其機制比較合理的解釋是硫化物在葉綠體葉綠層(thylakoids)膜上的基質(stroma)鍵結位置上具有競爭作用。至於酸霧方面的研究，Takemoto等人(1988)用酸處理番椒(*Capsicum annuum* L.)發現處理後葉綠素和胡蘿蔔素含量有增加現象，主要是在葉片未受害部份含量昇高，用以維持葉片綠色面積淨光合作用的正常水準，若以葉綠素含量爲單位則效率偏低，此結果和豆類植株試驗結果相同，即葉片未受傷部份能補償受傷部份的光合作用，而酸霧降低葉片光合作用主要是降低能行光合作用的葉片面積。

由於細胞內pH值對細胞代謝極爲重要，酸雨改變細胞內pH值將使phosphoenol pyruvate carboxylase的活性下降，phosphoenolpyruvate 的 carboxylation 減少 (Guern et al., 1983)。 葉綠體行光合作用pH值最高爲7.6～7.8，在pH6.5以下則停止。酸雨使葉綠體內基質(stoma)酸化，由於在光線下，葉綠體基質爲葉片上最鹼的部份，具有最高捕捉H^+能力，基質的酸化將抑制光合作用的進行(Leegood et al., 1982)。有些光活化酵素，如frucatosebiphosphatase和sedoheptu-lose bisphosphatase 在基質pH低於7.0以下甚少有活性(Pfanz and Heber, 1986)。細野及野內(1994)選定八種作物進行酸雨試驗，針對pH 2.5酸度測定葉片光合作用速率發現物種間差異極大，水稻葉片光合速率幾乎不受影響，而扁豆(bush bean)則下降相當明顯。至於落花生葉片經酸處理後二氧化碳交換速率變化情形，依初步結果，pH2.5及3.0皆有明顯下降情形(圖8)，pH2.5處理3次時，二氧化碳交換速率下降27%，處理10次時，

下降達35%，pH3.0則爲13%。由結果可知，二氧化碳交換速率顯較其他生理介量對酸雨反應來得敏感，至於其原因，除葉綠素減少影響光反應外，因酸刺激而使氣孔收縮，也將使二氧化碳進入保衛細胞內腔的機會大減，此二項因素應爲交換速率下降最主要的原因。

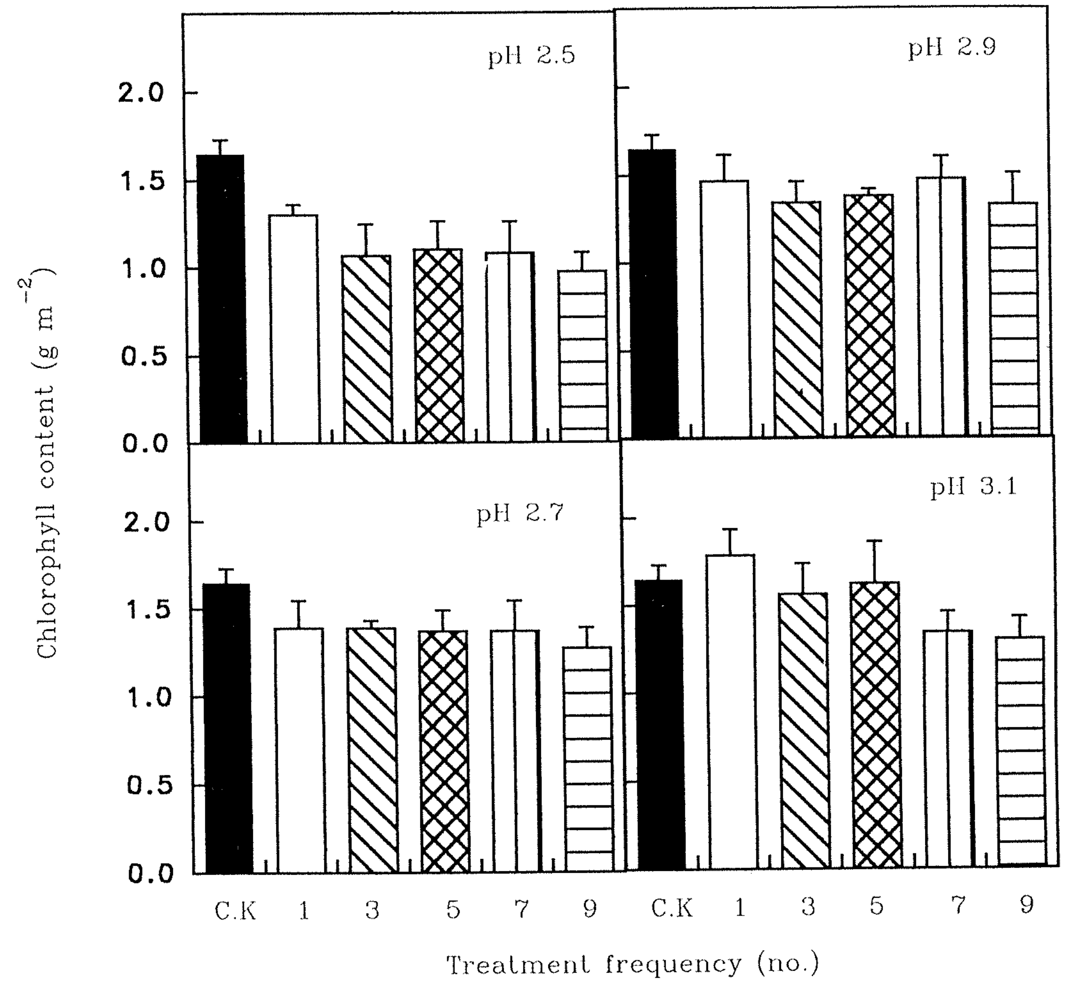

Fig 7. Changes of chlorophyll content of peanut leaf under simulated acid rain treatment. Bars indicates standard error.

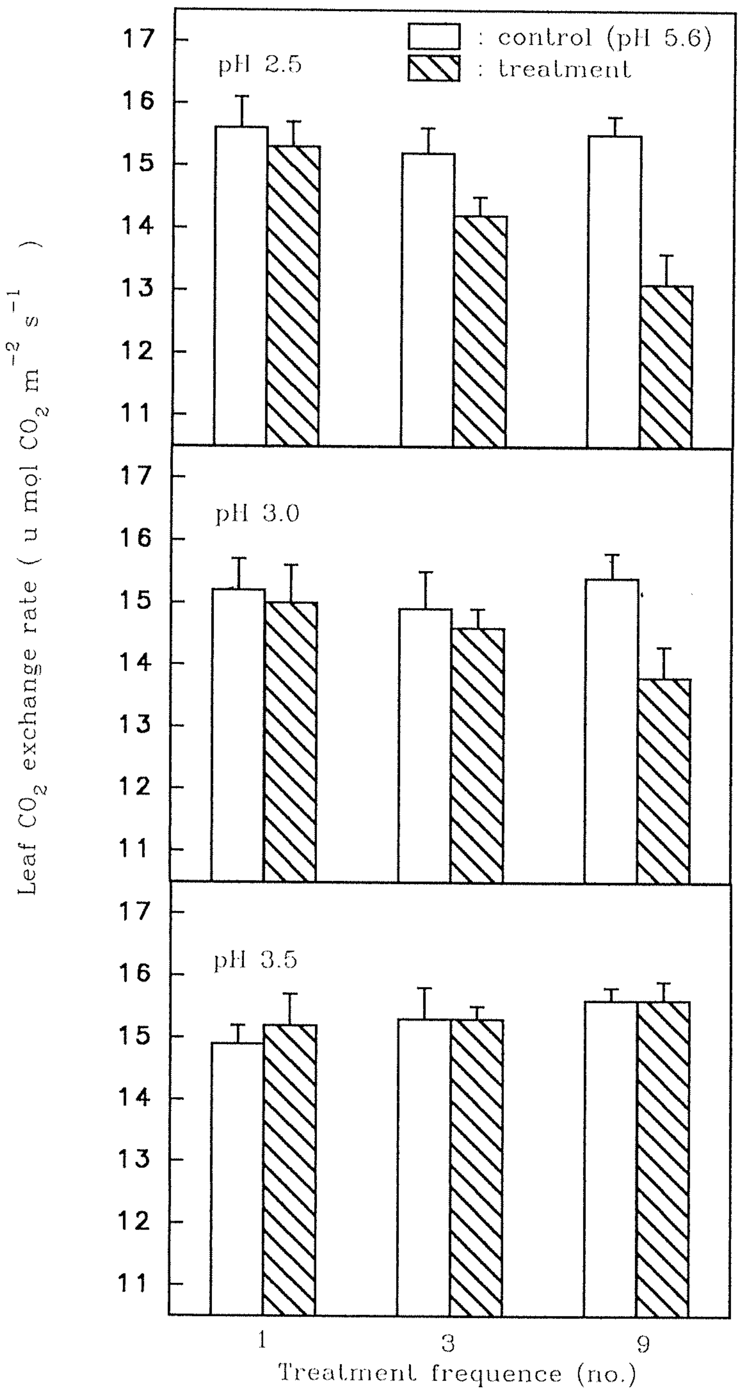

Fig 8. Changes of CO_2 exchange rate of peanut leaf under simulated acid rain treatment. Bar indicates standard error.

引用文獻

Arnon, D. I. and C. M. Johnson. 1942. Influence of hydrogen ion concentration on the growth of higher plants under controlled conditions. Plant Physiol. 17:525-539.

Eamus, D. 1993. Assimilation and stomatal conductance responses of red spruce to midwinter frosts and the constituent ions of acid mist. Tree Physiol. 13: 145-155.

Evans, L. S. 1982. Biological effects of acidity in precipitation on vegetation: A review. Environ. Exp. Bot. 22:155-159.

Ferenbaugh, R. W. 1976. Effects of simulated acid rain on *Phaselous vulgaris* L. Am. J. Bot. 63:283-288。

Forsline, P. L., R. C. Musselman, W. J. Kender and R. J. Dee. 1983. Effects of acid rain on apple tree productivity and fruit quality. J. Am. Soc. Hort. Sci. 108:70-74。

Guern, J., Y. Mathieu and A. Kurkdjian. 1983. PEPcarboxylase activity and the regulation of intracellular pH in plant cells. Physiol. Veg. 21:855-866.

Hall, D. O., J. M. Scurlock, H. R. Bolhar-nordenkampf, R. C. Leegood and S. P. Long. 1993. Photosynthesis and production in a changing environment: A field and laboratory manual. In p.95, Chapman and Hell, England.

Hindawi, I. J., J. A. Rea and W. L. Griffis. 1980. Response of bush bean exposed to acid mist. Am. J. Bot. 67:168-172。

Hosono, T and I. Nouchi. 1994. Effects of simulated acid rain on growth, yield and net-photosynthesis of several agricultural crops. J. Agr. Met. 50:121-127. (japanese)

Irving, P. M. 1983. Acidic precipitation effects on crops : A review and analysis of research. J. Environ. Qual. 12: 442-453.

Johnston, J. W. Jr., D. S. Shriner, C. I. Klarer and D. M. lodge. 1982. Effect of rain pH on senescence, growth , and yield of bush bean. Environ. Exp. Bot. 22: 329- 337.

Knittel, R and E. J. Pell. 1991. Effects of drought stress and simulated acidic rain on foliar conductance of *Zea may.* L. Environ. Exp. Bot. 31:79-90.

Leegood, R. C., Y. Kobayashi, S. Neimanis., D. A. Walker and U. Huber. 1982. Cooperative activation of chloroplast fructose 1,6-biphosphatase by reduction pH and substrate. Biochem. Biophys. Acta. 682:168-178.

Mayeux, J. R., W. R. Jordan, R. E. Meyer and S. M. Meola. 1981. Epicuticular wax on goldenweed (*Isocoma* spp.) leaves : variation with species and season. Weed Science. 29: 389-393.

Olszyk, D. M., A. Bytnerowicz and B. K. Takemoto. 1989. Photochemical pollution and vegetation : Effects of mixture of gases, fog and particles. Environ. Pollut. 61:11-29.

Percy, K. E. and E. A. Baker. 1987. Effects of simulated acid rain on production, morphology and composition of epicuticular wax and on cuticular membrane development. New Phytol. 107:577-589.

Pfanz, H. and V. Heber. 1986. Buffer capacities of leaves, leaf cells, and leaf cell organelles in relation to flux of potentially acidic gases. Plant Physiol. 81: 597- 602.

Smith, C. R., B. L. Vasilas, W. L. Banwart, D. B. Peters and W. M. Walker. 1990. Lack of physiological response of two corn hydrids to simulated acid rain. Environ. Exp. Bot. 30:435-442.

Takemoto, B. K., A. Bytnerowicz and D. M. Olszyk. 1989. Depression of photosynthesis, growth, and yield in field-grown green peper exposed to acidic fog and ambient ozone. Plant Physiol. 88: 477-482.

Trumble, J. T. and G. D. Walker. 1991. Acute effects of acidic fog on photosynthetic activity and morphology of *Phaseolus lunatus.* HortScience. 26:1531-1534.

Turunen, M. and S. Huttunen .1990. A review of the response of epicuticular wax of conifer needles to air pollution. J. Environ. Qual.19:35-45.

Unsworth, M. H. and D. P. Ormrod. 1982. Effects of gaseous air pollution in agriculture and horticulture. In p. 72. Butterworth Scientific. England.

Yunfeng, S., Z. Feng, T. Izuta, M. Aoki and T. Totsuka. 1996. The individual and combined effects of ozone and simulated acid rain on growth, gas exchange rate and water-use efficiency of *Pinus armandi* Franch. Environ. Pollut. 91:355-361.